

УДК 616-092.18

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ ГЛАДКИХ МЫШЦ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

А.В. Носарев^{1,2}, А.М. Кеденова¹, Т.А. Кироненко¹¹ Сибирский государственный медицинский университет² Томский политехнический университет

E-mail: avnosarev@yandex.ru

Носарев Алексей Валерьевич, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики СибГМУ, г. Томск; профессор кафедры прикладной физики Физико-технического института ТПУ. E-mail: avnosarev@yandex.ru
Область научных интересов: легочная артерия, активные формы кислорода, молекулярные механизмы внутриклеточной сигнализации в гладкомышечных клетках, газотрансмиттеры, медицинская физика.

Кеденова Айсылу Максимовна, студент медико-биологического факультета СибГМУ, г. Томск.

E-mail: avnosarev@yandex.ru
Область научных интересов: легочная артерия, молекулярные механизмы внутриклеточной сигнализации в гладкомышечных клетках.

Кироненко Татьяна Александровна, студент медико-биологического факультета СибГМУ, г. Томск.

E-mail: avnosarev@yandex.ru
Область научных интересов: легочная артерия, молекулярные механизмы внутриклеточной сигнализации в гладкомышечных клетках.

Механографическим методом исследовался эффект доноров сероводорода – гидросульфида натрия и L-цистеина – на механическое напряжение предсокращенных гиперкалиевой деполяризацией изолированных гладкомышечных сегментов легочной артерии крысы. Показан расслабляющий эффект как гидросульфида натрия, так и L-цистеина на сосудистые гладкие мышцы легочной артерии крысы.

Ключевые слова:

Сосудистые гладкие мышцы, сероводород, сигнальные системы, легочная артерия.

Введение

Изучение сероводорода в последнее время приобрело широкие масштабы. На сегодняшний день известно, что H_2S является газотрансмиттером, который образуется в организме в результате ферментативных реакций. Известно, что сероводород обладает сосудорасширяющим действием, имеет противовоспалительный, антипролиферативный эффекты, но в некоторых случаях может стимулировать воспаление. Взаимодействуя с активными формами кислорода, защищает организм от их повреждающего действия. Сероводород вовлечен в процессы внутриклеточной и межклеточной коммуникации, участвует в регуляции большого числа клеточных функций, включая сосудистый тонус [1], воспаление [2], пролиферацию, дифференцировку, гибель клеток [3] и др. В то же время механизмы оперирования H_2S как сигнальной молекулы остаются недостаточно изученными. Общеизвестным является сосудорасслабляющее действие сероводорода, однако остаются нерешенными вопросы о мембранных и молекулярных мишенях, через которые реализуются такие эффекты. Расслабление мембраны сосудистых гладкомышечных клеток при действии сероводорода связывают с активацией АТФ-чувствительных K^+ -каналов, гиперполяризацией мембраны и уменьшением потенциал-зависимого входа Ca^{2+} [4, 5].

расслабляющее действие сероводорода, однако остаются нерешенными вопросы о мембранных и молекулярных мишенях, через которые реализуются такие эффекты. Расслабление мембраны сосудистых гладкомышечных клеток при действии сероводорода связывают с активацией АТФ-чувствительных K^+ -каналов, гиперполяризацией мембраны и уменьшением потенциал-зависимого входа Ca^{2+} [4, 5].

Материал и методы

В работе использовались самцы крыс в количестве 12 штук. Материалом исследования служили кольцевые сегменты легочной артерии с сохраненным эндотелием и деэндоотелизированные сегменты. Животных умерщвляли декапитацией под глубоким наркозом (внутрибрюшинное введение пентобарбитала натрия (Nembutal, 70 мг/кг)) в соответствии с требованиями

«Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Эндотелий при необходимости удаляли вращением деревянного манипулятора в просвете сосуда. Сосудистые сегменты предварительно растягивали нагрузкой 500 мГ и фиксировали с помощью стальных крючков в термостатируемых камерах (37 °С) объемом 4 мл, заполненных стандартным физиологическим раствором Кребса. Механическое напряжение (МН) гладкомышечных препаратов измеряли в изометрическом режиме. Амплитуду контрольных сократительных ответов сегментов на действие гиперкалиевого раствора Кребса (40 мМ КСl) регистрировали после 40–50 минут выдерживания в нормальном растворе Кребса и принимали за 100 %. Изучали действие доноров H₂S L-цистеина и гидросульфида натрия в диапазоне концентраций от 1 мкМ до 1 мМ. Все растворы готовили на основе дистиллированной воды путем добавления соответствующих реактивов. Физиологический раствор Кребса содержал (мМ): 120,4 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 CaCl₂, 1,2 MgCl₂, 5,5 глюкозы, 15 NH₂C(CH₂OH)₃ [tris(hydroxymethyl)-aminomethane] (pH 7,4). Анализ данных проводили при помощи программы SPSS 17.0 for Windows. Фактические данные представлены в виде «среднее ± ошибка среднего» (X±m). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney test). Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты

В ходе эксперимента было выявлено, что донор сероводорода NaHS в концентрации 1–1000 мкМ расслаблял предсокращенные гиперкалиевым раствором Кребса сегменты легочной артерии крыс (рис. 1). После повышения концентрации NaHS от 5 мкМ и выше наблюдалось достоверное расслабление гладкомышечных сегментов ($p < 0,01$). Снижение амплитуды механического напряжения предсокращенных сегментов не зависело от наличия эндотелия.

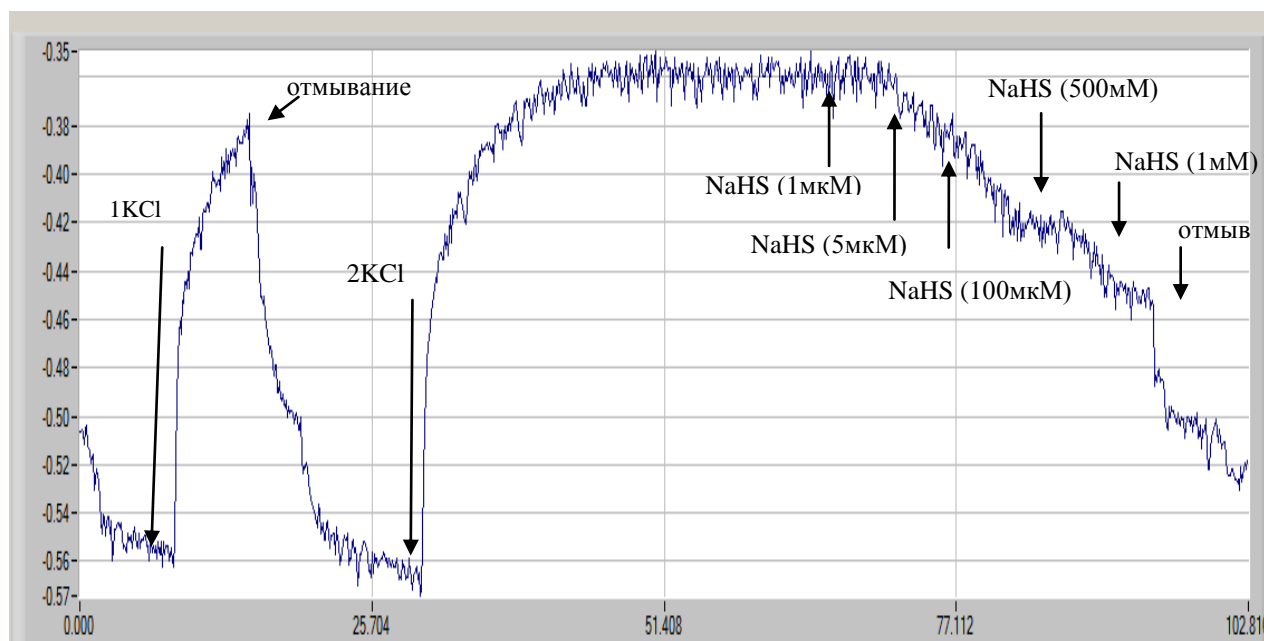


Рис. 1. Механограмма воздействия гидросульфида натрия на механическое напряжение сегментов легочной артерии, предсокращенных гиперкалиевым (40 мМ) раствором Кребса. По оси абсцисс – время в минутах, по оси ординат – механическое напряжение (МН) в мН

Максимальное снижение амплитуды сокращения сегментов с сохраненным эндотелием на гиперкалиевый раствор при действии NaHS составило $89,2 \pm 2,9$ %, а для деэндотелизированных – $60,4 \pm 5,1$ %. Некоторое повышение амплитуды механического напряжения при концентрации NaHS 1–5 мкМ для сегментов с сохраненным эндотелием происходило до $103,5 \pm 1,5$ % от гиперкалиевого раствора.

На фоне сокращения, вызванного 40 мМ KCl, добавление 100 мкМ – 100мМ L-цистеина оказывало дозозависимое релаксирующее действие на всем диапазоне концентраций. В ответ на добавление 100, 1000 мкМ, 10 и 100 мМ L-цистеина наблюдалось снижение МН сегментов, предсокращенных KCl, на $3,16 \pm 1,25$ %, $6,86 \pm 1,43$ %, $11,9 \pm 1,14$ %, $25 \pm 2,29$ % ($n = 8$, $p < 0,05$) соответственно от величины контрольного KCl-индуцированного предсокращения. L-цистеин является предшественником образования эндогенного сероводорода в клетках организма, соответственно, полученные эффекты расслабления на его введения, согласующиеся с действием внеклеточных доноров сероводорода, подтверждают, что мишени к H_2S находятся внутри клетки.

Заключение

Сероводород оказывает разнонаправленное действие на механическое напряжение сосудистых сегментов, которое зависит от концентрации газотрансмиттера. Некоторое повышение механического напряжения изолированных гладкомышечных сегментов легочной артерии при действии малых концентраций сероводорода могут быть обусловлены активацией последним Na,K,2Cl-котранспорта. Релаксирующий ответ более высоких концентраций сероводорода обусловлен активацией калиевых каналов мембран гладкомышечных клеток, ее последующей реполяризацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhao W., Wang R. H_2S -induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms // *Am. J. Physiol. Heart. Circ Physiol.* – 2002. – 283. – P. 474–480.
2. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide – the third gas of interest for pharmacologists // *Pharmacol. Reports.* – 2007. – 59. – P. 4–24.
3. Yang G., Wu L., Jiang B. et al. H_2S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase // *Science.* – 2008. – V. 322. – P. 587–590.
4. Mancardi D., Penna C., Merlino A. et al. Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: hydrogen sulfide // *Biochim Biophys Acta.* – 2009. – 1787(7). – P. 864–872
5. Leffler C.W., Parfenova H., Basuroy S. et al. Hydrogen sulfide and cerebral microvascular tone in newborn pigs // *J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2011. – 300(2). – H. 440–447.

Поступила 21.01.2015 г.